

**Oponentský posudek diplomové práce**  
**Bc. Karla Kopejtky**  
**Význam horizontálního přenosu genů při šíření bakteriální rezistence k tetracyklinu**  
**v zemědělské půdě**

Předkládaná diplomová práce je zajímavým příspěvkem k porozumění procesům, jimiž bakterie ovlivněné selekčními tlaky antimikrobiálních látek užívaných v humánní i veterinární medicíně předávají získanou genovou výbavu přirozeným bakteriálním společenstvům v půdě nebo sedimentu. Cílem práce bylo prokázat horizontální genový přenos genů rezistence k tetracyklinu mezi bakteriemi z kravských exkrementů, případně z hnojené půdy, a vybranými laboratorními recipientními kmeny, určit genetické elementy, které se při horizontálním přenosu uplatnily, podrobněji je popsat a zjistit, jaké typy rezistencí byly přeneseny. Práce má 82 stran včetně příloh a je členěna do kapitol Literární rešerše, Experimentální část, Výsledky, Diskuze a Závěr. Rozsah práce je přiměřený a je zpracována pečlivě s minimálním počtem nepřesností či překlepů, z nichž některé jsou níže uvedeny.

V práci jsou velmi přesně formulovány hypotézy a cíle práce. V Literární rešerši student podrobně a srozumitelně shrnul nejdůležitější poznatky relevantní vzhledem k tématu práce, tedy především o známých typech rezistence vůči tetracyklinu a genetických elementech účastnících se horizontálního přenosu genů u bakterií. V obsáhlé rešerši mohou snad postrádat jen nástin dalších možných postupů pro zjištění abundance a diversity, a případně izolaci, mobilních genetických elementů vyskytujících se ve společenstvu, a uvedení zvolené metody do tohoto kontextu.

Experimentální část obsahuje všechny potřebné informace, výsledky jsou přehledně prezentovány formou obrázků a tabulek. Výsledky, včetně negativních, jsou vhodně diskutovány a závěry práce jsou formulovány jasně a přiměřeně. Některé dílčí výhrady a dotazy jsou shrnuty níže.

Závěr: Diplomovou práci Bc. Karla Kopejtky doporučuji k obhajobě a navrhuji známku výborně.

**Drobné připomínky:**

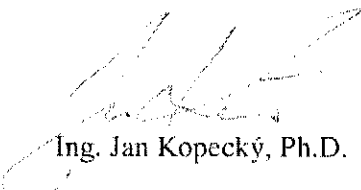
- Malou výjimkou z jinak téměř bezchybného textu jsou názvy antibiotik, viz. seznam zkratk a popisky obrázků, str. 52 a dále, např. klaritromycin česky nebo clarithromycin anglicky, doxyeyklin.
- U obrázků elektroforetických gelů, str. 54, 55, 57 snižuje informační hodnotu chybějící popis velikostí fragmentů použitého standardu.
- Nalezená rezistence vůči doxyeyklinu (str. 62, poslední řádek) je nejspíše způsobena genem tetracyklinové rezistence, nikoli dalším nezávislým genem.

**Otázky:**

- V diskuzi (str. 62, 2. a 3. odst.) zdůvodňujete skutečnost, že gen *tet(Q)* nebyl u transkonjugantů nalezen, jeho výskytem převážně u anaerobních bakterií, např. *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, přičemž konjugační pokusy probíhaly za aerobních podmínek. Očekával jste přenos z takto vzdálených taxonomických skupin?
- Další otázka na předešlou navazuje: Jak specificky konjugační přenos probíhá. Lze očekávat, že zvolený recipient pokryje výskyt genetického elementu např. u příslušníků určité taxonomické skupiny bakterií ve společenstvu? A pokud ano, na jaké taxonomické úrovni?

V Praze, dne 23. ledna 2013

Jméno a příjmení, podpis oponenta:

  
Ing. Jan Kopecký, Ph.D.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA,  
KATEDRA MEDICÍNSKÉ BIOLOGIE

Oponentský posudek na diplomovou práci

**Název práce:** Význam horizontálního přenosu genů při šíření bakteriální rezistence k tetracyklinu  
v zemědělské půdě  
**Autor:** Bc. Karel Kopejtko  
**Oponent:** Ing. Iva Kohoutová

**FORMA PRÁCE:**

- rešeršní (R)
- experimentální (E) hodnocení kvality literárního přehledu by mělo tvořit základ hodnocení (75%)
- projekt (P)

**HODNOCENÍ PRÁCE – OBSAHOVÁ STRÁNKA**

**název (R;E;P)<sup>1</sup>**

- dobře vystihuje obsah práce, je věcný a stručný
- vystihuje obsah práce, avšak ne zcela jednoznačně, věcně a stručně
- nevystihuje obsah práce

**cíle a hypotézy (R;E;P)**

- jasně formulované
- nejasně formulované
- chybí

**úvod a literární přehled (R;E;P)**

- jasný a přehledný, vztahuje se k zadané problematice a obsahuje dostatečné množství informací, které shrnuje na přiměřené úrovni poznání v dané oblasti; kriticky hodnotí použité informace
- nepřehledný – nelogicky členěný, bez kritické analýzy, avšak s dostatečným množstvím informací
- příliš stručný (s nedostatečným množstvím podkladů) nebo nevýstižný a ke zpracovávané problematice se vztahuje pouze částečně

**použité informační zdroje založené zejména na (R;E;P)**

- původní zahraniční a domácí literatura
- učebnice, slovníky a monografie
- „šedá literatura“

**použitá literatura (R;E;P)**

- v odpovídajícím rozsahu
- v nedostatečném rozsahu

**materiál a metody (E)**

- metody by mohly být přehlednější, ale nechybí nic podstatného, množství materiálu (pozorování, opakování v prostoru a čase) a použité metody jsou takové, že pomohou splnit vytčené cíle
- jasné a srozumitelné, nechybí nic podstatného, ale množství materiálu je nedostačující
- nesrozumitelné (není možno posoudit adekvátnost použitých metod a materiálu) nebo nedostatečně popsání  nevhodně zvolené metody, nemohou dát odpověď na vytčené cíle

---

<sup>1</sup> v závorce je uvedeno, pro kterou formu práce se vyplňuje

### **výsledky (E)**

- vhodně prezentované, odpovídají použité metodice, k vyhodnocení použity vhodné statistické metody
- málo přehlední a konkrétní, avšak odpovídají použité metodice, k vyhodnocení nebyly použity statistické metody
- zbytečně se opakující výsledky (např. dvojí prezentace v tabulkách i grafech), k vyhodnocení použity vhodné statistické metody

### **interpretace dat (diskuse) (E)**

- odpovídající, autor prokázal dobrou znalost studované problematiky, vhodně cituje dostatečné množství literárních zdrojů
- diskuse dat je nedostatečná (diskuse neodpovídá úrovni a rozsahu uvedených dat)
- data nepodložená, svým rozsahem neodpovídá zpracovaným datům a údajům, spekulace převládají nad fakty

### **závěry (R;E;P)**

- práce má jasné a jednoznačné závěry, které jsou podloženy a odpovídají na cíle a hypotézy práce
- závěry jsou sice přesné a podložené, ale úplně neodpovídají cílům práce, nebo některé cíle a hypotézy nejsou zmíněny
- závěry nejsou podložené či nevycházejí z předkládané práce

## **HODNOCENÍ PRÁCE - FORMÁLNÍ STRÁNKA (R;E;P)**

### **obrázky a tabulky**

- obsahují dostatečné množství informací, avšak méně přehledné kvůli nedostatku vysvětlivek a popisků
- nepřehledné, ale obsahují dostatečné množství informací
- nejsou součástí textu
- nevyhovující

### **text**

- formálně dokonalý
- bez větších formálních nedostatků
- po formální stránce nevyhovující (nemá doporučené členění)

### **jazyk**

- odpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu
- částečně odpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu
- neodpovídá gramatické správnosti, možnostem a zvyklostem používání v odborném textu

### **literatura**

- citována bez chyb, jednotně, citace použité v textu odpovídají seznamu literatury a způsob citací odpovídá mezinárodním nebo českým normám (méně než 5 chyb na práci)
- citována s chybami, nejednotně, citace v textu neodpovídají seznamu literatury (chybějící nebo přebývající citace)

*V případě potřeby přiložte doplňující komentář. Slovní hodnocení je povinné v případě, že se oponent obhajoby osobně nezúčastní.*

Doplňující komentář přiložen ANO (X) NE ( )

**Práce splňuje požadavky kladené na diplomové práce předkládané na PřF JU, a proto ji doporučuji k obhajobě.**

**Práci hodnotím klasifikačním stupněm  
VÝBORNĚ**

Datum: 19. ledna 2013

Podpis oponenta: *Kah*.....

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH,  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA,  
KATEDRA MEDICÍNSKÉ BIOLOGIE

Oponentský posudek na diplomovou práci – slovní hodnocení

**Název práce:** Význam horizontálního přenosu genů při šíření bakteriální rezistence k tetracyklinu v zemědělské půdě

**Autor:** Bc. Karel Kopejtko

**Oponent:** Ing. Iva Kohoutová

Ve své magisterské práci se student zabývá horizontálním přenosem genů rezistence k tetracyklinu mezi bakteriemi z kravských exkrementů nebo z půdy inkubované s těmito exkrementy a laboratorním bakteriálním recipientem. Dále je zaměřen na detekci genů tetracyklinové rezistence transkonjugantů z izolovaných plazmidů a detekci genových markerů pro určení těchto plazmidů.

Práce je složena z literární rešerše i experimentální části, které se vzájemně doplňují. Po obsahové i formální stránce je dobře zpracována, nechybí v ní konkrétně definované cíle a hypotézy na určené téma. Rešeršní část byla dostatečně vysvětlena. Obzvláště pozitivně hodnotím použití velkého množství literárních zdrojů a jejich objektivní zhodnocení. V experimentální části student prokázal praktickou orientaci v problematice. Z diskuze je patrná dobrá znalost problematiky podtrhnuta vhodnými citacemi, kritickým zhodnocením použitých metodik a případně navržením jiných metod či jejich doplněním.

Práce je prostoupena i několika nepřesnostmi, např. nepozorné číslování obrázků (Obrázek číslo 11 se vyskytuje v práci dvakrát pro dva odlišné grafy), na Obr. 10, což je fotografie agarózového gelu, chybí označení vzorků 11 – 14. Za nedostatek považuji chybějící vysvětlivky zkratk užívaných v tabulkách, např. v Tab. II. jsou použity zkratky, které mají udávat typ rezistence, ale jejich vysvětlení není pod příslušnou tabulkou ani v seznamu zkratk. Problém se zkratkami je patrný i v psaném textu, kde na str. 14 je použita zkratka ORF, ale v celé práci není její vysvětlení. Výsledky by mohly být více přehledné a konkrétní s náležitě popsanými tabulkami a obrázky, a s vysvětlením

značení vzorků. U obrázků agarózových gelů postrádám velikostní rozsah markerů, bez něhož čtenář není schopen rozpoznat velikost vzorku DNA.

Jinak tato práce je obsáhlá, a i přes tyto uvedené připomínky si cením syntézy získaných informací, ze které je patrná dobrá orientace v dané problematice, a mohu konstatovat, že tato práce splňuje požadavky kladené na diplomové práce, doporučuji ji k obhajobě a hodnotím klasifikačním stupněm VÝBORNĚ.

V rámci obhajoby bych uvítala odpovědi na následující otázky:

- V konjugačních pokusech jste pro selekci potenciálních transkonjugantů používal pevné médium s cykloheximidem, rifampicinem, kanamycinem a tetracyklinem. V práci přímo neuvádíte, proč byl použit právě rifampicin a kanamicin, ale předpokládám, že je to pro potlačení růstu půdních donorů a zvýhodnění tak růstu recipientů. Jakou můžete mít jistotu, že půdní bakterie nemají geny rezistence pro rifampicin a kanamicin, anebo že jim nemohou být předány od původních recipientů při matingu?
- Může se stát, že na selektivním médiu narostou kolonie potenciálních transkonjugantů, ale genový marker pro očekávané plazmid (např. inkompatibilní skupiny IncP-1) se nedetekuje? Jaká je pravděpodobnost, že studovaný recipient bude přijímat právě očekávané plazmid (inkompatibilní skupiny IncP-1)?

V Českých Budějovicích, 19. ledna 2013

Ing. Iva Kohoutová

